

WEST

Generate Collection

L7: Entry 26 of 47

File: JPAB

Oct 18, 1989

PUB-NO: JP401261403A  
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 01261403 A  
TITLE: NEW SUBSTANCE AND ANTICANCER DRUG

PUBN-DATE: October 18, 1989

## INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
MATSUO, TOSHIHARU	
SHOJI, TOSHIKATSU	
IWAMOTO, MASAYA	
UCHINO, KEIJIRO	

## ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
NIPPON FLOUR MILLS CO LTD	

APPL-NO: JP63089744

APPL-DATE: April 12, 1988

US-CL-CURRENT: 435/184

INT-CL (IPC): C08B 37/00; A61K 35/78; C07G 17/00; C12N 9/99

## ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain an anticancer drug which contains as an active ingredient a sulfate or its salt by extracting and separating a betel palm as a raw material with methanol and water and furthermore fractionating, separating and purifying it.

CONSTITUTION: The title substance is an anticancer drug which contains at least one substance selected from the group consisting of sulfates and salts of NF-861, NF-86II, NPF-861A, NPF-861B, NPF-86IIA and NPF-86IIB having specified physicochemical properties. NF-861 and NF-86II are obtd. by, e.g., the following method. Namely, a betel palm as a raw material is degreased with a solvent and then extracted with methanol. Then, the extract is dried and extracted with water. The aq. soln. of the extract is purified with a non- hydrophilic org. solvent and the obtd. aq. soln. is fractionated by means of a dialysis tube. Active substances fractionated into fractions having MW of 1,000&sim;10,000 and 100,000 or larger are named NF-861 and NF-86II, respectively. These fractions are furthermore separated and purified by means of high performance liq. chromatography to obtain NPF-861A, NPF-861B, NPF-86IIA and NPF-86IIB.

COPYRIGHT: (C)1989, JPO&amp;Japio

## ⑫ 公開特許公報 (A) 平1-261403

⑬ Int. Cl. *	識別記号	庁内整理番号	⑭ 公開 平成1年(1989)10月18日
C 08 B 37/00		H-7330-4C	
A 61 K 35/78	ADU	C-8413-4C	
C 07 G 17/00		Z-8318-4H	
// C 12 N 9/99		7823-4B 審査請求 未請求 請求項の数 2 (全22頁)	

⑮ 発明の名称 新規物質及び制癌剤

⑯ 特 願 昭63-89744

⑰ 出 願 昭63(1988)4月12日

⑮ 発明者	松尾 俊治	神奈川県横浜市旭区鶴ヶ峰本町1003 鶴ヶ峰睦寮
⑮ 発明者	東海林 敏勝	神奈川県綾瀬市蓼川2-12-67 タウニー蓼川103
⑮ 発明者	岩本 昌也	東京都町田市本町田3549-10 藤の台団地2-20-104
⑮ 発明者	内野 敬二郎	神奈川県愛甲郡愛川町中津5894
⑯ 出願人	日本製粉株式会社	東京都渋谷区千駄ヶ谷5丁目27番5号
⑰ 代理人	弁理士 中村 稔 外2名	

## 明細書

1060、800

1. 発明の名称 新規物質及び制癌剤

(vi) 赤外線吸収スペクトル:

水  $\lambda_{\text{max}}$  nm (E 1 cm) 279 (135.7)塩酸  $\lambda_{\text{max}}$  nm (E 1 cm) 279 (134.5)水酸化ナトリウム  $\lambda_{\text{max}}$  nm (E 1 cm) 1%

290肩(291.2)、

420肩(96.4)、

500肩(60.6)

(1) 下記の理化学的性質を有する、NF-861、  
NF-86II、NPF-86IA、NPF-  
86IB、NPF-86IIA及びNPF-  
86IIBの硫酸エステル化物及びその塩からな  
る群より選ばれる物質。  
(NF-86I)

(i) 形状: 淡黄褐色粉末。

(vii) 溶解性: 水、メタノールに可溶。ヘキサ  
ン、エーテル、酢酸エチル、ク  
ロロホルムに不溶。

(ii) 融点: 明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析: 炭素 56.30%

(viii) 呈色反応:

塩化第2鉄反応 脂性

ニンヒドリン反応 陰性

p-アニシジン-4-タル酸 反応 陰性

アニリン-4-ジフェニルアミン 反応 陰性

ドラーゲンドルフ反応 陰性

(iv) 分子量: 1,000~10,000 (透析チ  
ューブによる)

(v) 赤外線吸収スペクトル:

 $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup>; 3430、2940、1610、1520、  
1440、1370、1280、1110、

(ix) 安定性: 粉末状態では安定。

(N F - 8 6 II)

415肩(100.0)、

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

505肩(61.2)

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(iii) 元素分析：炭素 56.64%

水素 4.59%

窒素 0.2%以下

灰分 0.3%以下

(iv) 分子量：10,000以上(透析チューブによる)

(v) 赤外線吸収スペクトル：

 $\nu_{\text{max}}^{\text{IR}} \text{ cm}^{-1}$  : 3400, 2940, 1610, 1520, 1450, 1370, 1290, 1110, 1060, 800, 500

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水	$\lambda_{\text{max}}$ nm (E 1 cm) 1%	280 (145.3)
塩酸	$\lambda_{\text{max}}$ nm (E 1 cm) 1%	279 (142.1)
水酸化ナトリウム	$\lambda_{\text{max}}$ nm (E 1 cm) 1%	290肩(306.1)、

(viii) 星色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ドーラゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-861A)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 54.82%  
水素 4.52%  
酸素 37.93%  
窒素 0.2%以下

灰分 0.2%以下

(iv) 分子量：5,620(ポリエチレングリコールを標準としたゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

アニリン-ジフェニルアミン反応 陰性  
ドーラゲンドルフ反応 陰性

(v) 赤外線吸収スペクトル：

 $\nu_{\text{max}}^{\text{IR}} \text{ cm}^{-1}$  : 3400, 2940, 1610, 1520, 1440, 1380, 1280, 1260, 1210, 1160, 1110, 1060, 820, 800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水	$\lambda_{\text{max}}$ nm 279
---	-------------------------------

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-861B)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 57.09%  
水素 4.45%  
酸素 35.03%  
窒素 0.2%以下  
灰分 0.2%以下

(viii) 星色反応：

(iv) 分子量：5,000(ポリエチレングリコールを標準とした、ゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性

(v) 赤外線吸収スペクトル：

 $\nu_{\text{max}}^{\text{IR}} \text{ cm}^{-1}$  : 3400, 2930, 1610, 1520, 1440, 1360, 1280, 1250, 1200, 1160, 1110, 1060, 800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  
 $\lambda_{\text{max}}$  nm 279

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ドラーゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-86ⅡA)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 51.44%

水素 4.44%

窒素 0.1%以下

灰分 0.2%以下

ドラーゲンドルフ反応

陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-86ⅡB)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 52.46%

水素 4.42%

窒素 0.1%以下

灰分 0.2%以下

(iv) 分子量：8,610 (ポリエチレングリコールを標準とした、ゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

(v) 赤外線吸収スペクトル：

$\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> ; 3400、2930、1610、1520、1440、1370、1280、1250、1200、1160、1110、1060、800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  
 $\lambda_{\text{max}}$  nm 279

(iv) 分子量：29,400 (ポリエチレングリコールを標準とした、ゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

(v) 赤外線吸収スペクトル：

$\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> ; 3400、2950、1610、1520、1440、1370、1280、1250、1210、1160、1110、1060、820、800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  
 $\lambda_{\text{max}}$  nm 279

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ドラーゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(2) 請求項1記載のNPF-86Ⅰ、NPF-86Ⅱ、NPF-86ⅠA、NPF-86ⅠB、NPF-86ⅡA及びNPF-86ⅡBの硫酸エステル化物及びその塩からなる群より選ばれる少なくとも1種を有効成分とする制癌剤。

## 3. 発明の詳細な説明

## 〔産業上の利用分野〕

本発明は、新規物質及びそれを有効成分とする制癌剤に関する。

## 〔発明の背景〕

従来、癌化学療法剤として、アルキル化剤(アイトロゼンマスターD類、エチレンイミン類、スルフィン酸エステル類、ニトロソウレア類)、代謝拮抗物質(メトトレキセート、フトラフル、シトシンアラビノサイド、シクロシチジン等)、植物性抗癌剤(コルセミド、ビンプラスチン、ポルフィリン等)、抗生物質(ブレオマイシン、アドリアマイシン、マイトマイシン等)、ホルモン類(副腎ステロイド、男性ホルモン、女性ホルモン)、免疫賦活剤(クレスチン、ビシバニール等)及びポルフィリン錯塩(マーフィリン、COPP)等が用いられている。しかし一般に制癌物質の作用は癌細胞だけでなく正常細胞にも作用するために毒性が強く、重大な副作用を呈するので、感染症に対する化学療法剤の如く大量の薬剤を使用す

ることによって十分な効果をあげることは困難な現状にある。

一方、ピンロウジは東南アジア各地等に産するピンロウジュ(アレカ・カテチュー・リンネ(Areca catechu L.))(ヤシ科)の果皮を除いた種子であり、收れん、唾液分泌促進薬、条虫駆除薬などとして、また縮瞳薬臭化水素酸アレコリンの原料として知られている。

特公昭45-20547号公報は、このピンロウジから抽出した物質をホスファターゼ(5'-ヌクレオクダーゼ)阻害剤として用いる発明を開示しているが、この中ではホスファターゼ阻害作用以外の作用については言及していない。

## 〔発明の目的〕

従来の制癌剤は、前述のように毒性が強く、副作用を有するものが多かった。そこで本発明は、毒性が極めて低く、大量投与の可能な種々の天然物質を原料とする制癌物質を提供することを目的とするものである。

## 〔発明の構成〕

本発明は下記の理化学的性質を有する、NF-86I、NF-86II、NPF-86IA、NPF-86IB、NPF-86IIA及びNPF-86IIBの硫酸エステル化物及びその塩からなる群より選ばれる物質を提供するものである。(NF-86I)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 56.30%

水素 4.61%

窒素 0.2%以下

灰分 0.3%以下

(iv) 分子量：1,000～10,000(透析チューブによる)

(v) 赤外線吸収スペクトル(第5図を参照)：

$\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> ; 3430、2940、1610、1520、1440、1370、1280、1110、1060、800

## (vi) 紫外線吸収スペクトル

(第7図及び第9図を参照)：

水	1%	279 (135.7)
塩酸	1%	279 (134.5)
水酸化ナトリウム	1%	290肩(291.2)、 420肩(96.4)、 500肩(60.6)

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

## (viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ラーゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(N F - 8 6 II)

415肩(100.0)、

505肩(61.2)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 56.64%

水素 4.59%

窒素 0.2%以下

灰分 0.3%以下

(iv) 分子量：10,000以上(透析チューブによる)

(v) 赤外線吸収スペクトル(第6図参照)：

$\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$  : 3400、2940、1610、1520、  
1450、1370、1290、1110、  
1060、800、500

(vi) 紫外線吸収スペクトル(第8図及び第10図参照)：

水  $\lambda_{\text{max}} \text{ nm}$  (E 1 cm) 280 (145.3)  
塩酸  $\lambda_{\text{max}} \text{ nm}$  (E 1 cm) 279 (142.1)  
水酸化ナトリウム  $\lambda_{\text{max}} \text{ nm}$  (E 1 cm) 290肩(306.1)、

灰分 0.2%以下  
(iv) 分子量：5,620(ポリエチレングリコールを標準としたゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

(v) 赤外線吸収スペクトル(第1図参照)：

$\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$  : 3400、2940、1610、1520、  
1440、1380、1280、1260、  
1210、1160、1110、1060、  
820、800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  $\lambda_{\text{max}} \text{ nm}$  279

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性

(viii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(ix) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ドラーゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-86IA)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 54.82%

水素 4.52%

酸素 37.93%

窒素 0.2%以下

(viii) 呈色反応：

アニリン-ジフェニルアミン反応 陰性

ドラーゲンドルフ反応 陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-86IB)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 57.09%

水素 4.45%

酸素 35.03%

窒素 0.2%以下

灰分 0.2%以下

(iv) 分子量：5,000(ポリエチレングリコールを標準とした、ゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

(v) 赤外線吸収スペクトル(第2図参照)：

$\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$  : 3400、2930、1610、1520、  
1440、1360、1280、1250、  
1200、1160、1110、1060、  
800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  
 $\lambda_{\text{max}}$  nm 279

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ドラーゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-86IIA)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：炭素 51.44%

水素 4.44%

窒素 0.1%以下

灰分 0.2%以下

ドラーゲンドルフ反応 陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

(NPF-86IIB)

(i) 形状：淡黄褐色粉末。

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：

炭素 52.46%

水素 4.42%

窒素 0.1%以下

灰分 0.2%以下

(iv) 分子量：8,610 (ポリエチレングリコールを標準とした、ゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

(v) 赤外線吸収スペクトル (第4図参照) :

$\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> ; 3400、2930、1610、1520、1440、1370、1280、1250、1200、1160、1110、1060、800

(iv) 分子量：29,400 (ポリエチレングリコールを標準とした、ゲル浸透クロマトグラフィーによる。)

(v) 赤外線吸収スペクトル (第3図参照) :

$\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> ; 3400、2950、1610、1520、1440、1370、1280、1250、1210、1160、1110、1060、820、800

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  
 $\lambda_{\text{max}}$  nm 279

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性

(vi) 紫外線吸収スペクトル：

水  
 $\lambda_{\text{max}}$  nm 279

(vii) 溶解性：水、メタノールに可溶。ヘキサン、エーテル、酢酸エチル、クロロホルムに不溶。

(viii) 呈色反応：

塩化第2鉄反応	陽性
ニンヒドリン反応	陰性
p-アニシジン-フタル酸反応	陰性
アニリン-ジフェニルアミン反応	陰性
ドラーゲンドルフ反応	陰性

(ix) 安定性：粉末状態では安定。

また本発明は、上記のNPF-86I、NPF-86II、NPF-86I A、NPF-86I B、NPF-86II A及びNPF-86II Bの硫酸エステル化物及びその塩からなる群より選ばれる少なくとも1種を有効成分とする制癌剤を提供するものである。

## (新規物質の製造法)

以下、本発明の新規物質の製造法について詳細に説明する。

## (i) 原 料

原料としては前記のビンロウジを使用するが、加工・抽出しやすいように、乾燥・粗碎、粉碎などの処理をしたもの用いることが好ましい。また市販されている生薬の形態のものを用いることが簡便である。

## (ii) 抽 出

本発明に用いるNF-86Ⅰ及びNF-86Ⅱはフェノール性物質であり、5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性及び制癌活性によって特徴づけられるので、水、有機溶媒、遠心分離や遠過などによって、これらの阻害活性を指標として適当な精製手段を適用して単離・精製することができる。これらの方法は必要に応じて単独あるいは任意の順序に組合せ、または反覆して適用できる。以下にNF-86Ⅰ及びNF-86Ⅱの抽出方法の1例を説明する。

- (1) ヘキサン、エーテルなどの脱脂溶媒を用いて、室温で、又は加熱して原料を脱脂する。
- (2) 脱脂した原料を風乾又は真空乾燥して、脱脂溶媒を除去する。
- (3) 次いでメタノールを抽出原料に加えて常法に従い抽出処理する。通常は沸騰下で抽出するが、4℃の低温室にて抽出を行っても、活性成分が得られる。
- (4) 得られた抽出液を濃縮乾固した後、水を加えて懸濁液とする。これを滤紙にて遠過する。不溶物は、さらに水を加え、よく攪拌した後遠過し、前の滤液とあわせる。
- (5) この水溶液に等量の酢酸エチル又はクロロホルム等の非親水性有機溶媒を加え、有機溶媒可溶部分を除去する。
- (6) 非親水性有機溶媒可溶部分を除去した水層を分画分子量1,000の透析チューブ（スペクトラ/ポア6；スペクトラムメディカルインダストリー社製）に入れ、水にて透析し、内液と外液に分画する。

(1) 分画分子量1,000の透析チューブにて分画した透析内液をさらに、分画分子量10,000の透析チューブ（スペクトラ/ポア6；スペクトラムメディカルインダストリー社製）に入れ、水にて透析し、内液と外液に分画する。

(2) このように分画すると、分子量1,000～10,000、10,000以上の分画部分に目的とする阻害活性が認められ、凍結乾燥などの操作により、有効物質を2種類とも淡褐色の粉末として得ることができる。

本発明者は、分子量1,000～10,000及び10,000以上に分画された有効物質を各々NF-86Ⅰ及びNF-86Ⅱと命名した。

(NPF-86ⅠA、NPF-86ⅠB、NPF-86ⅡA及びNPF-86ⅡBの分離)

このように、透析チューブにて分画してきたNF-86Ⅰ及びNF-86Ⅱは、さらにそれぞれ2つの分画に分類できる。すなわちNF-86Ⅰは、分子量5,620の画分（NPF-86ⅠA）と分子量5,000の画分（NPF-86ⅠB）よ

り、またNF-86Ⅱは分子量29,400の画分（NPF-86ⅡA）と分子量8,610の画分（NPF-86ⅡB）より構成されている（第11図参照）。

これら4種の物質（NPF-86ⅠA、NPF-86ⅠB、NPF-86ⅡA及びNPF-86ⅡB）の分離精製は、種々の公知の方法によって行うことができるが、以下の条件で高速液体クロマトグラフを用いて行うことが好ましい。

## (i) 分離カラム

この際分離カラムとしては、分配・吸着型樹脂、イオン交換樹脂、ゲル通過型の分離剤等を組みたものを用いることができる。また付属的に自動注入や自動分取を行う装置を導入することも好ましい。

## (ii) 溶離剤

溶離剤としては、水-メタノール系の他、水、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、酢酸、ブタノール、ヘキサンその他の各種緩衝溶液を単品で、又は任意の比率で混合して、用いるこ

とができる。

(iii) 指標

本発明の有効物質を検出するための指標としては、280nmの波長の吸光度及び5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性を用いることができる。

(iv) 処理方式

処理方式としては、オープンカラム、中圧又は高圧方式を用いることができる。

NPF-86ⅠA、NPF-86ⅠB、NPF-86ⅡA及びNPF-86ⅡBは、高速液体クロマトグラフでそれぞれ単一のピークを示し、5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性が一致する。

また、本物質の分子量を測定するために行なったゲル浸透クロマトグラフにても単一ピークを示す。

各種ポリエチレングリコールの標準分子量にて検討したところNPF-86ⅠAの分子量は5,620、NPF-86ⅠBは5,000、NPF-86ⅡAは29,400そしてNPF-86ⅡBは8,610と決定した。

また前記の紫外線吸収スペクトルでもあきらかに、アルカリ性にすると、上記新規物質はいずれも黄褐色から赤褐色に着色するので、抽出過程全体を硫酸や有機酸を用いて弱酸性下で行なうことも有効な抽出手段である。

阻害活性は、メタノール抽出物など粗抽出物でも効果がある。しかし、前述の抽出方法は原植物特有の香、色を除去し、より制癌作用の強い物質を得る方法として最適である。さらに非親水性有機溶媒可溶部分を除く操作を行なっているため、水溶液としても均一に透明に溶解させることができるのでなお好ましい。

(v) 硫酸エステル化

本発明においては、上記の方法によって得たNF-86Ⅰ、NF-86Ⅱ、NPF-86ⅠA、NPF-86ⅠB、NPF-86ⅡA及びNPF-86ⅡB(以下、これらを総称して原料物質類ということもある。)を、次いで硫酸エステル化する。

これらの原料物質類はそれ自体制癌活性を有し

以上述べてきたようにNF-86Ⅰは、NPF-86ⅠAとNPF-86ⅠBの混合物で、一方NF-86ⅡはNPF-86ⅡAとNPF-86ⅡBの混合物であった。高速液体クロマトグラムの解析により、NF-86Ⅰは、NPF-86ⅠAとNPF-86ⅠBの約1対3の混合物であることが、一方NF-86Ⅱは、NPF-86ⅡAとNPF-86ⅡBの約1対1の混合物であることが認められた。

制癌作用に関しては、NPF-86ⅠA、NPF-86ⅠB、NPF-86ⅡA、NPF-86ⅡBさらにはNF-86Ⅰ、NF-86Ⅱはほぼ同程度の効果が認められる。

以上の抽出操作は、原植物特有の香、色を除去し、目的とする制癌性物質を得る方法として最適である。尚、有効物質は、メタノール、水に可溶であるため、前述の抽出方法は、原料のメタノール抽出物より出発しているが、高価な有機溶媒を節約するためにはまず大量の水または熱湯にて抽出した後、同様の操作を行ってもよい。

ているが、これを硫酸エステル化することにより水に対する溶解性が増加し、水溶液が安定なものとなる。また原料物質類の水溶液は、長時間放置すると不溶物が析出し、褐変するが、硫酸エステル化物の場合そのようなことはない。

本発明において、硫酸エステル化物のイオウ含量は、0.1~3.0%であることが好ましい。

硫酸エステル化に用いる試薬としては、公知の硫酸エステル化試薬ならどれでもよいが、反応性、扱い易さからいえば、クロルスルホン酸が適当である。

反応は塩基性下で行なうが、溶媒は特に限定されない。ただし、溶媒自身で塩基性条件下となるピリジンが好ましく、特に無水ピリジンが好ましい。

反応温度は、室温下で差し支えないが、有機化学的には、氷冷下硫酸エステル化試薬を加え、後に室温でまたは加熱して反応させるのが一般的である。

硫酸エステル化試薬例えば、クロルスルホン酸

の添加量は、得られる硫酸エステル化度にいちじるしく影響する。しかし本誘導体の目的である、制癌活性、検体の安定性、溶解性は、硫酸エステル化度の低いものでも、十分達成させることができる。ただし工業上、種々の硫酸エステル化度のものをつくり、分離・精製することは不可能なため、大過剰の硫酸エステル化試薬を用い、可能なかぎり硫酸エステル化することが好ましい。このように大過剰の硫酸エステル化試薬を用いて得た硫酸エステル化物のイオウ(S)含量は、5~20%で、容易に毎回ほぼ同含量の硫酸エステル化物を得ることができる。

反応は、硫酸エステル化試薬滴下とほぼ同時に進行するが、室温下しばらく攪拌するほうが好ましい。反応時間については1時間、24時間、48時間のものでイオウ含量はほとんど変化がなかった。

反応後の硫酸エステル化物を得る方法としては、種々考えられるが、例えば反応液をそのまま脱塩し、硫酸エステル化物を得る方法、反応液を中和

し、アリカリ塩として得る方法等がある。

どちらも有効であるが、例えばナトリウム塩やカリウム塩などの塩の形で、硫酸エステル化物を方が好ましい。

また、悪臭を放つビリジンを、非親水性溶媒例えばクロロロホルム、酢酸エチル等で除去することも好ましい。

#### (制癌剤)

本発明者は、NF-86I、NF-86II、NPF-86IA、NPF-86IB、NPF-86IIA、NPF-86IIB及びそれらの硫酸エステル化物並びにその塩の種々の薬理的効果を研究し、これらの物質が制癌作用を有することを発見し、本発明の制癌剤を完成した。本発明において、制癌剤の有効成分は、NPF-86IA、NPF-86IB、NPF-86IIA、NPF-86IIB、NF-86I及びNF-86IIの硫酸エステル化物並びにその塩の単品または任意の混合物である。

本発明の制癌剤は、癌細胞に直接作用してその

増殖を抑制すると共に、癌細胞に対抗するマクロファージを活性化して制癌作用を発揮する。

#### i) 投与方法

本発明の制癌剤は、経口及び非経口投与のいずれも使用可能であり、経口投与する場合は、軟・硬カプセル剤又は錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤として投与され、非経口投与する場合は、注射剤、点滴剤及び固体状又は懸濁粘稠液状として持続的な粘膜吸収が維持できるように坐薬のような剤型で投与され得るが、癌の原発部位、手術後の癌摘出部位等の局所組織内投与、皮内、皮下、筋肉内、静脈内注射、局所への塗布、噴霧、坐剤、膀胱内注射などの外用的投与法等も用いることができる。

#### ii) 投与量

投与量は、投与法と癌の悪性度、患者の年令、病状や一般状態、癌の進行度等によって一定したものではないが、大人では通常、1日当たり有効成分として0.5~5.000mg、小人では通常、0.5~3.000mgである。

#### iii) 製剤化の方法

本発明の制癌剤組成物の有効成分の割合は、剤型によって変更し得るが、通常、経口又は粘膜吸収に投与されるとき、ほぼ0.3~15.0重量%が適当であり、非経口投与されるときは、ほぼ0.01~10重量%が適当である。

また、本発明の有効成分を製剤化するに当っては、常法に従い、水溶液、油性製剤などにして皮下或いは静脈注射用製剤とすることができる他、カプセル剤、錠剤、細粒剤等の剤型に製剤化して経口用に供することができる。

また、有効成分に長時間の保存に耐える安定性及び耐酸性を付与して薬効を完全に持続させるために、更に医薬的に許容し得る皮膜を施して製剤化すれば、すぐれた安定性を有する制癌剤組成物とすることができます。

本発明の有効成分の製剤化に用いられる界面活性剤、賦形剤、滑沢剤、佐剤及び医薬的に許容し得る皮膜形成物質等を挙げれば、次のとおりである。

本発明の組成物の崩壊、溶出を良好ならしめるために、界面活性剤、例えばアルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビダンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類等の1種又は2種以上を添加することができる。

また、賦形剤として、例えば蔗糖、乳糖、デンプン、結晶セルロース、マンニット、軽質無水珪酸、アルミン酸マグネシウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム、合成珪酸アルミニウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸水素カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の1種又は2種以上を組合せて添加することができる。

滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等を1種又は2種以上添加することができ、また嗜味剤及び臭味剤として、食塩、サッカリン、糖、マンニット、オレンジ油、カンゾウエキス、クエン酸、ブドウ糖、メントール、ユーカリ油、リンゴ酸等の甘

味剤、香料、着色剤、保存料等を含有させてもよい。

懸濁剤、湿润剤の如き佐剤としては、例えばココナッツ油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、乳酸カルシウム、ベニバナ油、大豆リン脂質等を含有させることができる。

また皮膜形成物質としては、セルロース・糖類等の炭水化物誘導体として酢酸フタル酸セルロース(CAP)、またアクリル酸系共重合体、二塩基酸モノエステル類等のポリビニル誘導体としてアクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体、メタアクリル酸メチル・ルタアクリル酸共重合体が挙げられる。

また、上記皮膜形成物質をコーティングするに際し、通常使用されるコーティング助剤、例えば可塑剤の他、コーティング操作時の薬剤相互の付着防止のための各種添加剤を添加することによって皮膜形成剤の性質を改良したり、コーティング操作をより容易ならしめることができる。

#### iv) 制癌活性の検定

次に、有効成分の制癌活性を確認した制癌性試験法について述べる。

##### (1) 生体外試験

HL-60細胞及びヒラ細胞を直径5cmのシーラーに播き、37℃にて48時間、炭酸ガス培養器にて培養した後、各濃度の硫酸エステル化物のサンプル(各原料物質名の末尾に-Sをつけて表す。)を添加後、再び培養し、4日後、サンプルを含まない対照に対する増殖抑制の割合を測定した。

結果を第1表に示す。

第1表 各種癌細胞に対する増殖抑制効果

化 合 物	イオウ 含有率 (%)	ヒラ細胞			ヒラ細胞		
		100μg/ml	50μg/ml	100μg/ml	50μg/ml	100μg/ml	50μg/ml
Ni-86 I-S	6.5	22%	11%	30%	19%	45%	17%
Ni-86 II-S	13.3	56%	17%	43%	23%	20%	39%
Ni-86 I A-S	9.7	24%	15%	23%	20%	20%	29%
Ni-86 I B-S	9.3	28%	10%	19%	49%	40%	40%
Ni-86 II A-S	6.2	63%	10%	49%	49%	40%	40%
Ni-86 II B-S	10.5	49%	10%	40%	40%	39%	39%

第2表

## (2)生体内試験

1群10匹のICR雄マウスに $1 \times 10^5$ 個のエーリッヒ(Ehrlich)腹水細胞を腹腔内移植し、注射剤として腹腔内へ、24時間後より10mg/kg又は20mg/kgの濃度でNF-86I-S又はNF-86II-Sを1日1回10日間連続投与したところ、第14図及び第15図に示す如く、優れた制癌作用を示した。

## (VI) 急性毒性

本発明の硫酸エステル化物を用いて、マウスの腹腔内投与による急性毒性試験を行った。

結果を第2表に示す。

サンプル	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
NF-86I-S	>400
NPF-86I A-S	>400
NPF-86I B-S	>400
NF-86II-S	200
NPF-86II A-S	200
NPF-86II B-S	200

## 〔実施例〕

以下、実施例、参考例、及び製剤例により、本発明を更に詳細に説明する。

## 参考例1

- イ) 粗碎・乾燥したピンロウジ100gをヘキサン300ml中に浸漬し24時間室温で放置した後、遠過によりヘキサンを除去した。この操作を3回行い、脱脂した。
- ロ) 脱脂したピンロウジを30分間風乾した。
- ハ) 風乾したピンロウジをメタノール300ml中

に浸漬し、沸騰下3時間抽出した。この操作を3回行い、抽出液を集めた。

- ニ) 得られた抽出液をエバボレーターにて25℃で濃縮し、真空下で乾燥した(収量6.86g)。これに水150mlを加え、攪拌後遠過した。不溶物はさらに水100mlを加えて攪拌後遠過し、遠液を集めた。
- ホ) この水溶液に250mlの酢酸エチルを加えて抽出した。この操作を3回行い、酢酸エチル可溶部分を除去した。不溶物は1.85g残り、酢酸エチル抽出物0.61g、水抽出物4.01gを得た。

ヘ) 非親水性有機溶媒可溶部分を除去した水抽出物を分画分子量1,000の透析チューブ(スペクトラ/ポア6;スペクトラムメディカルインダストリー社製)に入れ、水にて4℃で透析し、内液と外液に分画した。

ト) 分画分子量1,000の透析チューブにて分画した透析内液をさらに、分画分子量10,000の透析チューブ(スペクトラ/ポア6;スペク

トラムメディカルインダストリー社製)に入れ、水にて4℃で透析し、内液と外液に分画した。チ) このように分画したところ、分子量1,000～10,000及び10,000以上の分画部分に目的とする制癌活性及び5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性を認め、凍結乾燥により、有効物質を2種とも淡褐色の粉末として得ることができた。分子量1,000～10,000の画分(NF-86I)と、0.50gを得ることができ、5'-ヌクレオチダーゼ活性に対する50%阻害濃度は、124ng/mlであった。分子量10,000以上の画分(NF-86II)は、0.75g得ることができ、5'-ヌクレオチダーゼ活性に対する50%阻害濃度は、72ng/mlであった。分子量1,000以下の画分は2.76g得ることができたが、5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性はNF-86I及びNF-86IIに比べて非常に弱かった。

得られたNF-86I及びNF-86IIについて、5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性を以下のように

第3表

サンプル	50%阻害濃度 (ng/ml)
NF-86I	124
NF-86II	72

またピソロウジ抽出物の精製の各段階における抽出物の5'-ヌクレオチダーゼ阻害活性について、検定したところ、第4表のような結果を得た。

第4表

層	ピソロウジ100g からの収量	50%阻害濃度 (IC <sub>50</sub> μg/ml)
メタノール層	6.86 g	0.225
酢酸エチル層	0.61 g	2.21
H <sub>2</sub> O層	4.01 g	0.147
WW 1000以下	2.76 g	4.89
WW 1000~10000	0.50 g	0.124
WW 10000以上	0.75 g	0.072

うにして検定した。

基質溶液としては、5.5 mMの塩化マグネシウムを含む5.5 mMのトリス塩酸緩衝液(pH 8.5)に1.1 mMのアデノシンモノホスフェートナトリウム塩(ジクマ(Sigma)社製、Type II)と10 mMの酒石酸ナトリウムカリウム塩を溶解したものを用いた。

また酵素液としてはヘビ毒由来5'-ヌクレオチダーゼ(シグマ(Sigma)社製)を使用した。

検定は次のように行った。

基質溶液0.45 mLと酵素液10 μL及び検定試料を40 μL加え温浴中30℃で、20分間反応させ、反応終了後、0.5 mLの10%トリクロロ酢酸を加えて反応を停止させ、生成する沈殿物を遠心分離した。この上清0.5 mLをとり、1%トリトントン25 μL、蒸留水1.8 mL及び2.5% (w/v)モリブデン酸アンモニウムを含む5規定の硫酸水溶液0.25 mLを加え、20分後660 nmの吸光度を用いて測定した。

結果を第3表に示す。

#### [参考例2]

NF-86I及びNF-86IIよりNPF-86IA、NPF-86IB、NPF-86IIA及びNPF-86IIBの分離・精製を高速液体クロマトグラフにて行なった。条件は次のとおりである。

分離カラム： 吸着・分配型樹脂をつめたもの(Shodex RS-pack、DE-613：昭和電工社製)

溶離液： 水：メタノール=1:9

検出器： 紫外分光検出器(日本分光工業製) 280 nm

NF-86I、500 mgよりNPF-86IA 36.7 mg、NPF-86IB 244.2 mgを得た。またNF-86II 250 mgより、NPF-86IIA 68.8 mg、NPF-86IIB 68.0 mgを得た。

#### 実施例1

NF-86I: 200 mgを無水ピリジン30 mLに懸濁させ、氷冷下、クロルスルホン酸7.6 gを少量づつ滴下し、室温で2日間攪拌した。次いで

これに氷冷下、水80 mLを加え、飽和炭酸水素ナトリウムで中和後、等量のクロロホルムにてピリジンを除去した。この反応液を、分画分子量1000の透析チューブ(スペクトラ/ポア6；スペクトラムメディカルインダストリー社製)に入れ、水にて7日間透析し、内容液を凍結乾燥して、NF-86Iの硫酸エステル化物のナトリウム塩NF-86I-Sを27.0 mg得た。

同様にして、NF-86IIから、その硫酸エステル化物のナトリウム塩NF-86II-Sを254 mg得た。

同様にして、NPF-86IA、NPF-86IB、NPF-86IIA及びNPF-86IIBからこれらの硫酸エステル化物のナトリウム塩NPF-86IA-S、NPF-86IB-S、NPF-86IIA-S及びNPF-86IIB-Sを得た。

次に、NF-86I-S及びNF-86II-Sの理化学的性質を示す。

(N F - 8 6 I - S)

(i) 形状：淡黄褐色粉末

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：C 32.0%

H 2.7%

N 0.5%

O 38.7%

S 6.5%

灰分 15.4%

(iv) 赤外線吸収スペクトル：

 $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> : 3436、2968、1614、1519、  
 1487、1440、1227、1119、  
 1048、832、749、707、  
 589。
(v) 溶解性：水、メタノール可溶、ヘキサン、  
 エーテル、酢酸エチル、クロロホ  
 ルム不溶。

(vi) 安定性：粉末状態及び水溶液中で安定。

(N F - 8 6 II - S)

(i) 形状：淡黄褐色粉末

に、0.85%生理的食塩水500mlを添加して静脈内注射剤として、1日、10~500mlを症状に応じて静脈内注射又は点滴で投与する。

製剤例2（注射・点滴剤）

硫酸エステル化物又はその塩50mgを用いた他は、製剤例1と同様の方法により軽症用静脈内注射剤とし、1日、10~500mlを症状に応じて静脈内注射又は点滴で投与する。

製剤例3（注射剤、カプセル剤）

硫酸エステル化物又はその塩30mgを精製ゴマ油1g及びステアリン酸アルミニウムゲル100mgに溶解し密封した上、窒素、ヘリウム等の不活性ガスを封入して冷暗所に保存し、皮下注射用剤とする。症状に応じて1日に1回、1~10mlを皮下注射で投与する。

また、前記製剤を0.5mlずつカプセルに分注して経口用カプセル剤とし、1日、1~10カプセルを症状に応じて経口投与する。

製剤例4（腸溶性錠剤）

以下の成分組成で腸溶性錠剤大人用（イ）及び

(ii) 融点：明瞭な融点、分解点を示さない。

(iii) 元素分析：C 23.2%

H 1.9%

N 0.4%

O 34.8%

S 13.3%

灰分 34.0%

(iv) 赤外線吸収スペクトル：

 $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup> : 3412、2931、1614、1515、  
 1486、1440、1223、1048、  
 859、749、588。
(v) 溶解性：水、メタノール可溶、ヘキサン、  
 エーテル、酢酸エチル、クロロホ  
 ルム不溶。

(vi) 安定性：粉末状態及び水溶液中で安定。

製剤例1（注射・点滴剤）

硫酸エステル化物又はその塩500mgを含有するように粉末ぶどう糖5gを加えてバイアルに無菌的に分配し、密封した上、窒素、ヘリウム等の不活性ガスを封入して冷暗所に保存する。使用前

小人用（ロ）各々1.000個を製造した。

〔A〕

主剤（硫酸エステル化物 またはその塩）	(イ) 100(g)	(ロ) 50(g)
乳 糖	99.4	49.7
ヒドロキシプロ ピルセルロース	0.6	0.3
ステアリン酸		
マグネシウム	2.0	1.0

〔B〕

酢酸フタル酸セルロース	5.0(g)	4.0(g)
ヒドロキシプロピルメチル セルロースフタレート	6.0	4.0

〔A〕の成分を各々とり、よく混合し、このものを直接に加圧するか、またはよく練合した後、押し出し型製粒機のスクリーンを通して顆粒成形を行い、十分によく乾燥したものを加圧して錠剤を製造した。

次に、成形された錠剤によく溶解させた〔B〕の、基材を被覆して腸溶性の錠剤とする。

この錠剤について日本薬局方（以下、「日局」

という。) 崩壊試験法、腸溶性製剤の人工胃液(pH 1.2) 試験を行ったところ、1時間振盪しても崩壊せず、人工腸液(pH 7.5) 試験においては5~6分で崩壊した。

#### 製剤例5 (腸溶性顆粒剤)

以下の成分で腸溶性顆粒剤1,000gを製造した。

##### [A]

主剤 (硫酸エステル化物またはその塩)	100(g)	(イ)	100(g)
乳 糖	737	(ロ)	50(g)
ヒドロキシプロピルセルロース	3		

##### [B]

酢酸フタル酸セルロース	80(g)		
ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート	80		

[A]の成分を各々とり、よく混合した後、常法に従って粒状に成形し、それをよく乾燥して篩別し、ピン、ヒートシール包装などに通した顆粒剤を製造した。次に、この顆粒を浮遊流動させながら溶解した[B]の基材を被覆し、腸溶性の顆

粒剤とする。この顆粒剤は、日局の崩壊試験器を用いて崩壊試験を行ったところ、pH 1.2の人工胃液に1時間振盪しても崩壊しない。pH 7.5の人工腸液では5分で崩壊した。

#### 製剤例6 (腸溶性カプセル剤)

以下の成分で腸溶性カプセル剤1,000個を製造した。

##### [A]

主剤 (硫酸エステル化物またはその塩)	100(g)	(イ)	100(g)
乳 糖	24.6	(ロ)	74.4
ヒドロキシプロピルセルロース	0.4		0.4

##### [B]

酢酸フタル酸セルロース	10 (g)	10 (g)
ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート	10	10

上記の成分で製剤例5に記載した同様の方法でカプセル用に適した腸溶性の顆粒剤を製造し、その組成物をカプセルに充填して腸溶性カプセルとした。

このカプセルは、日局の崩壊試験器を用いて崩壊試験を行ったところ、pH 1.2の人工胃液に1時間振盪しても崩壊または溶出を認めず、pH 7.5の人工腸液に5分で崩壊または全量が溶出した。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図はNPF-86ⅠAの赤外線吸収スペクトルを示す。

第2図はNPF-86ⅠBの赤外線吸収スペクトルを示す。

第3図はNPF-86ⅡAの赤外線吸収スペクトルを示す。

第4図はNPF-86ⅡBの赤外線吸収スペクトルを示す。

第5図はNF-86Ⅰの赤外線吸収スペクトルを示す。

第6図はNF-86Ⅱの赤外線吸収スペクトルを示す。

第7図はNF-86Ⅰの0.1規定塩酸及び水溶媒を用いた紫外線吸収スペクトルを示す。

第8図はNF-86Ⅱの0.1規定塩酸及び水溶

媒を用いた紫外線吸収スペクトルを示す。

第9図はNF-86Ⅰの0.1N水酸化ナトリウム溶媒を用いた紫外線吸収スペクトルを示す。

第10図はNF-86Ⅱの0.1N水酸化ナトリウム溶媒を用いた紫外線吸収スペクトルを示す。

第11図はNF-86Ⅰ及びNF-86Ⅱの高速液体クロマトグラムを示す。

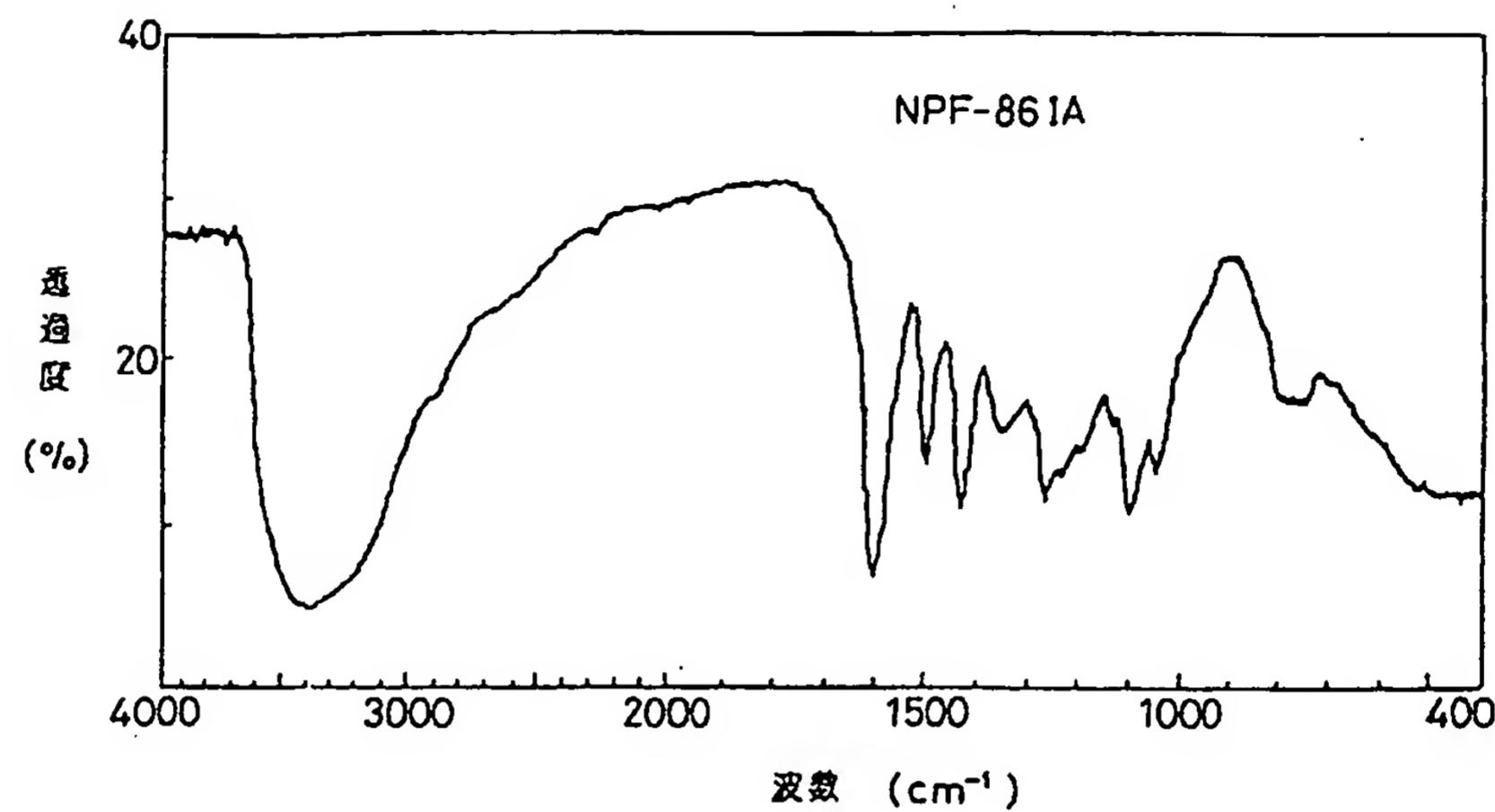
第12図は、NF-86Ⅰ-Sの赤外線吸収スペクトルを示す。

第13図は、NF-86Ⅱ-Sの赤外線吸収スペクトルを示す。

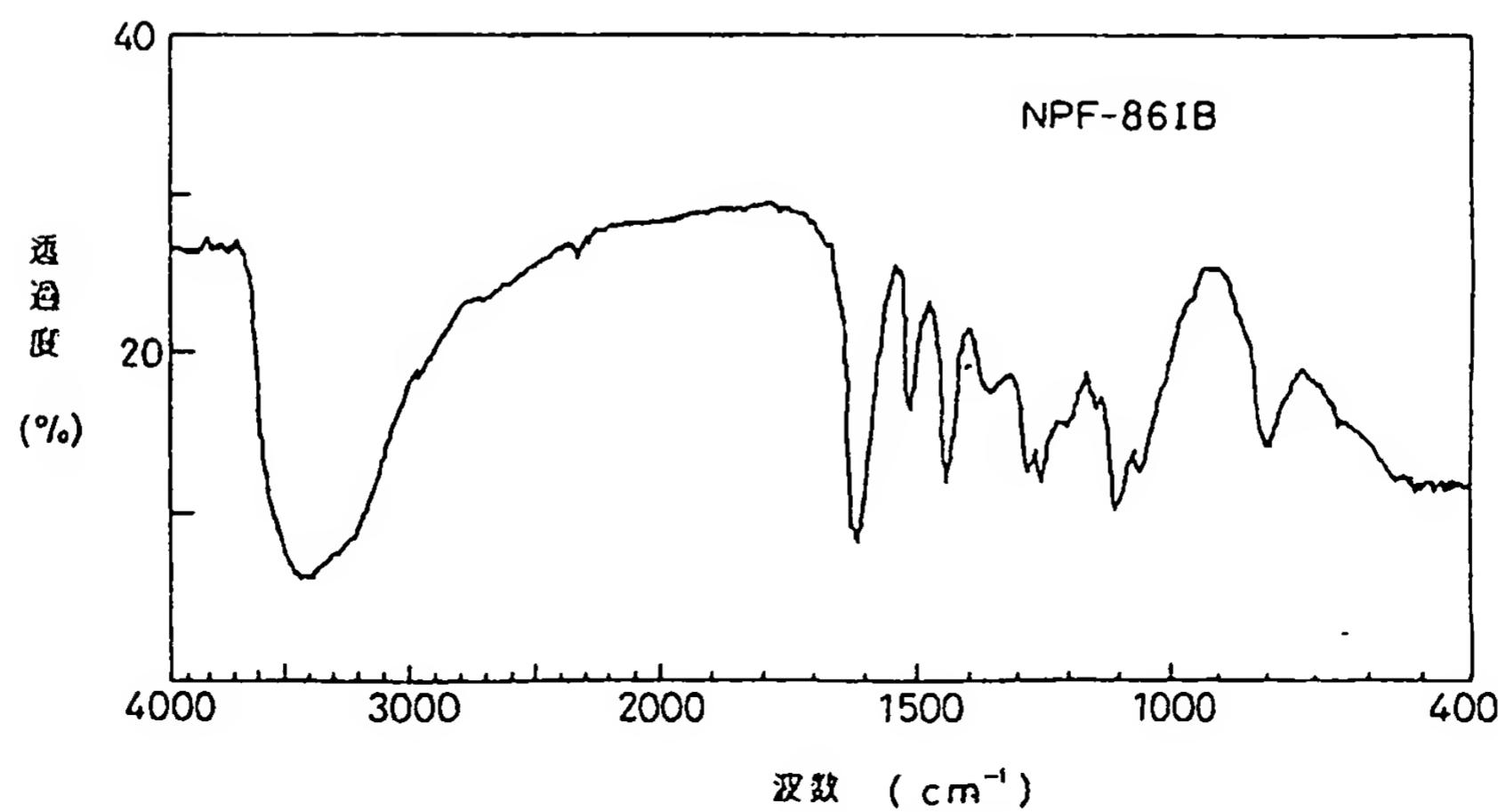
第14図は、癌細胞を移植した各群10匹のマウスにNF-86Ⅰ-Sを投与した場合、及び無投与の場合のマウスの生存日数と生存率を示す。

第15図は、癌細胞を移植した各群10匹のマウスにNF-86Ⅱ-Sを投与した場合、及び無投与の場合のマウスの生存日数と生存率を示す。

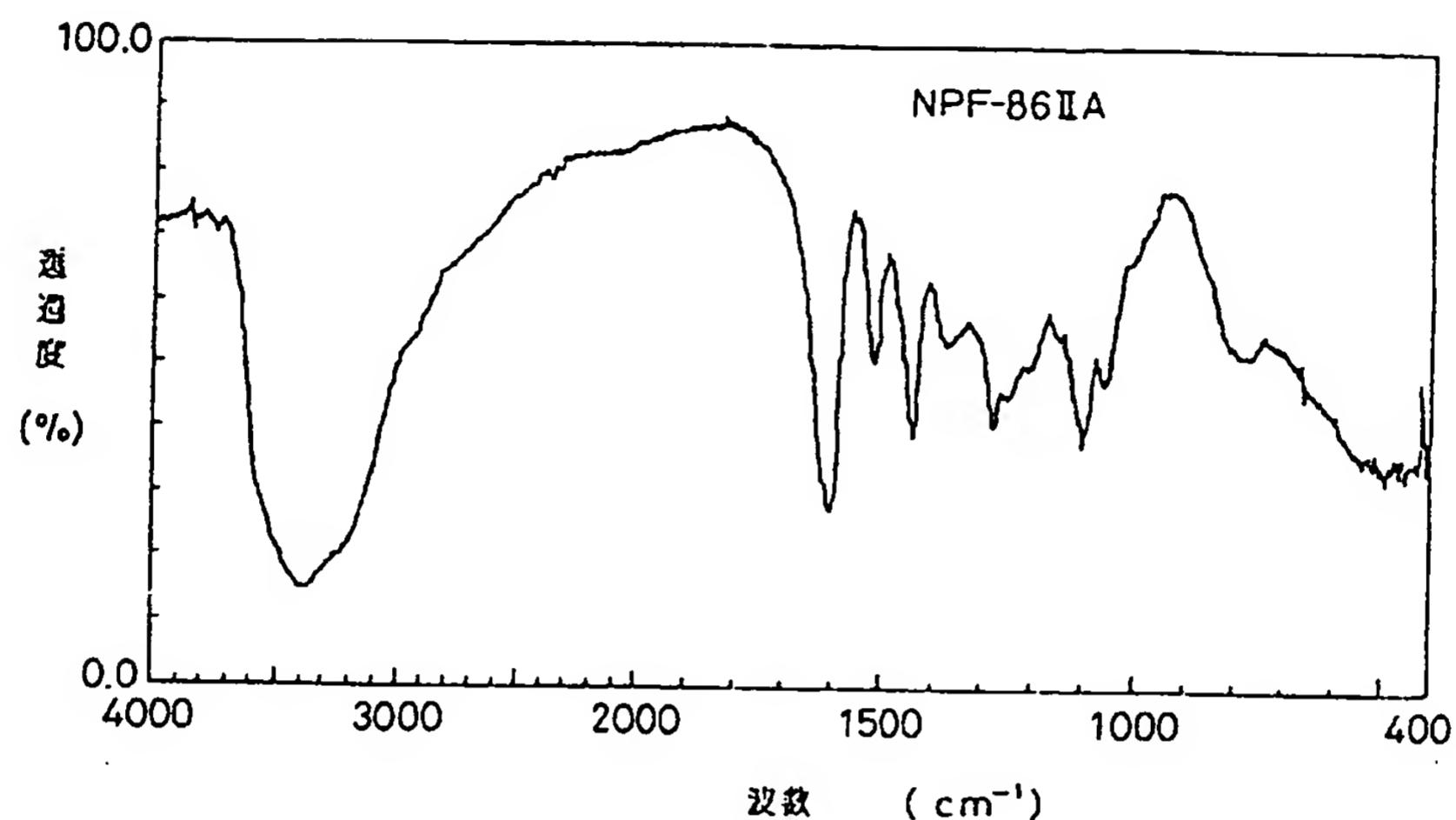
第 1 図



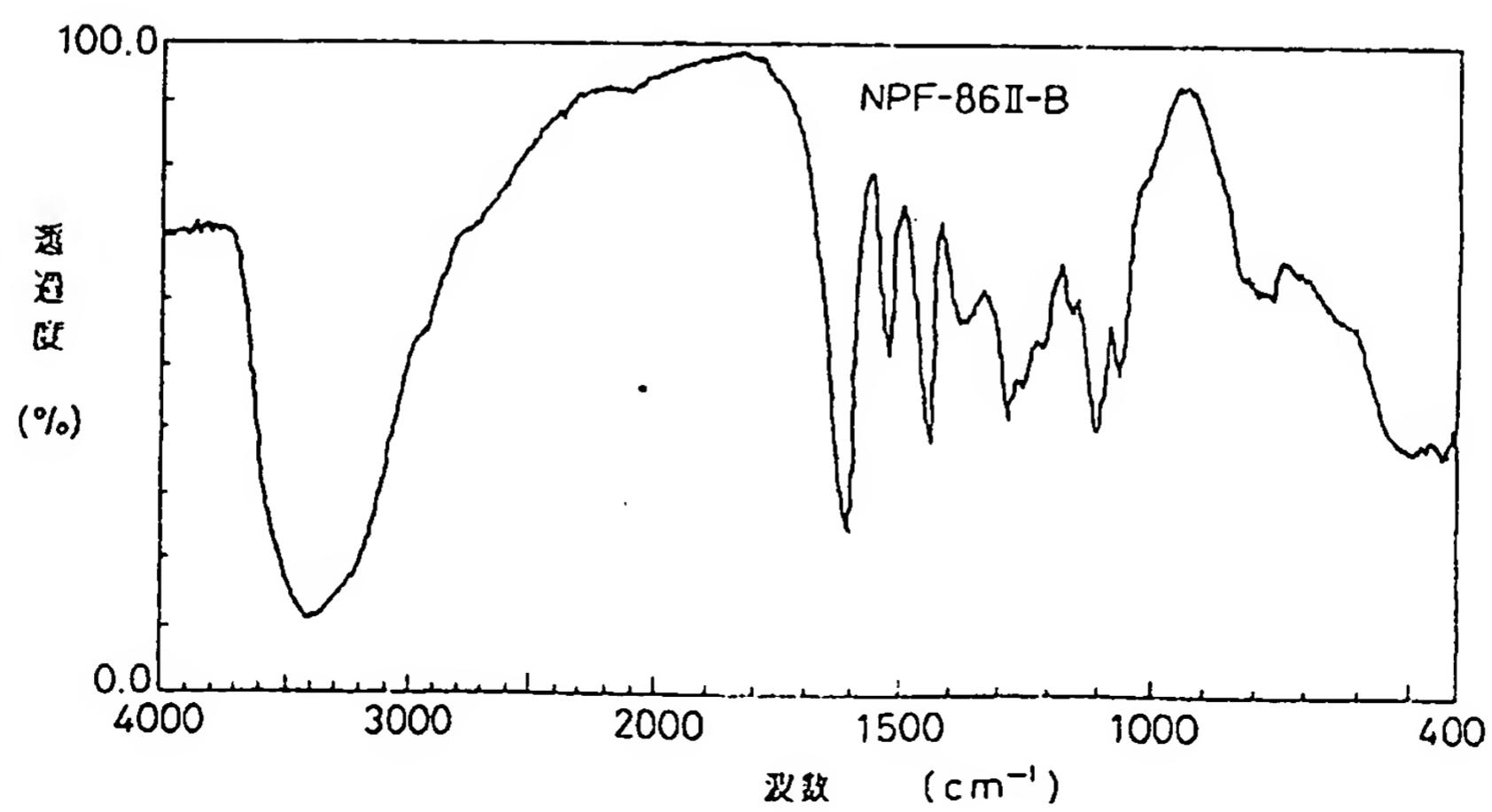
第 2 図



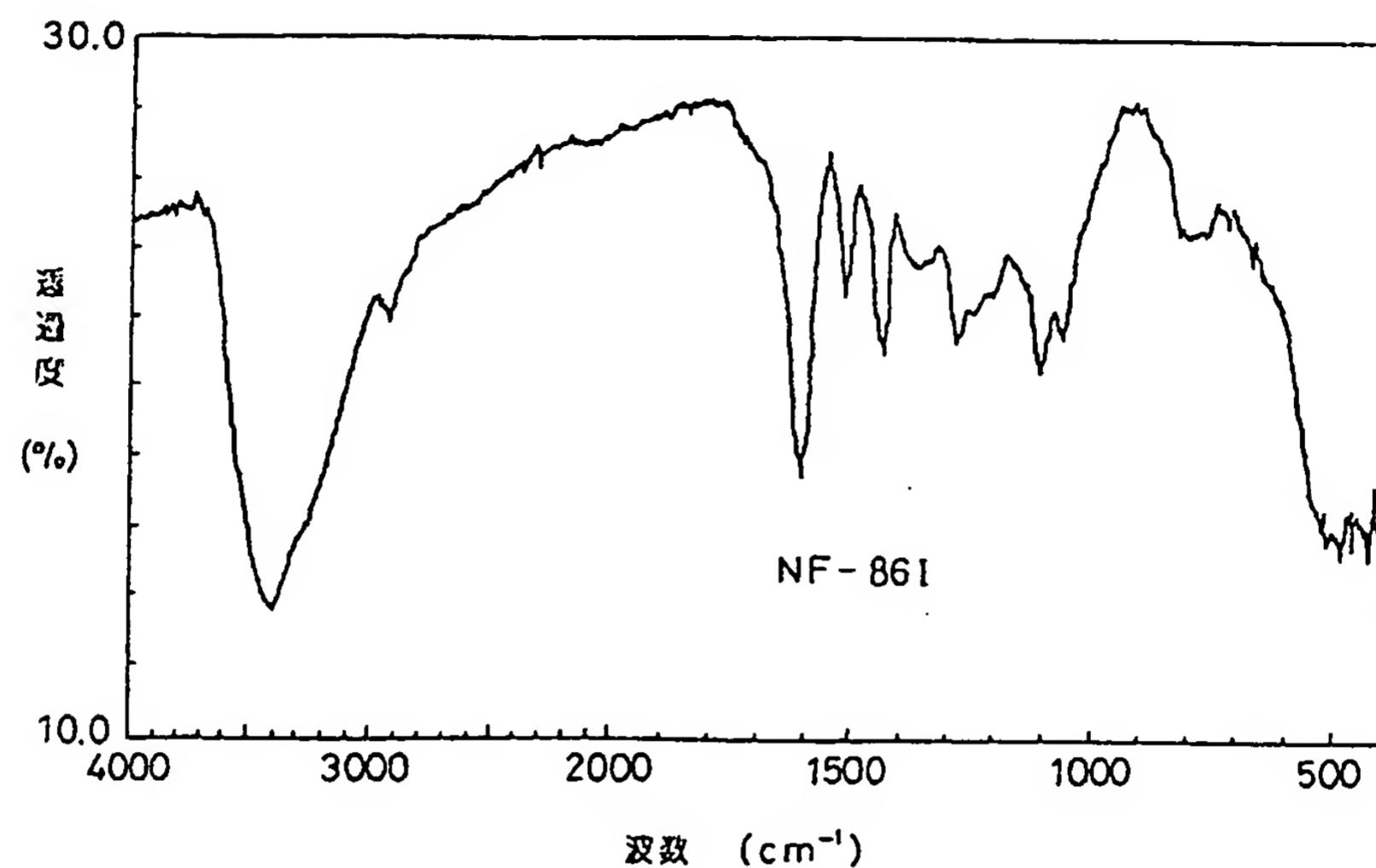
第3図



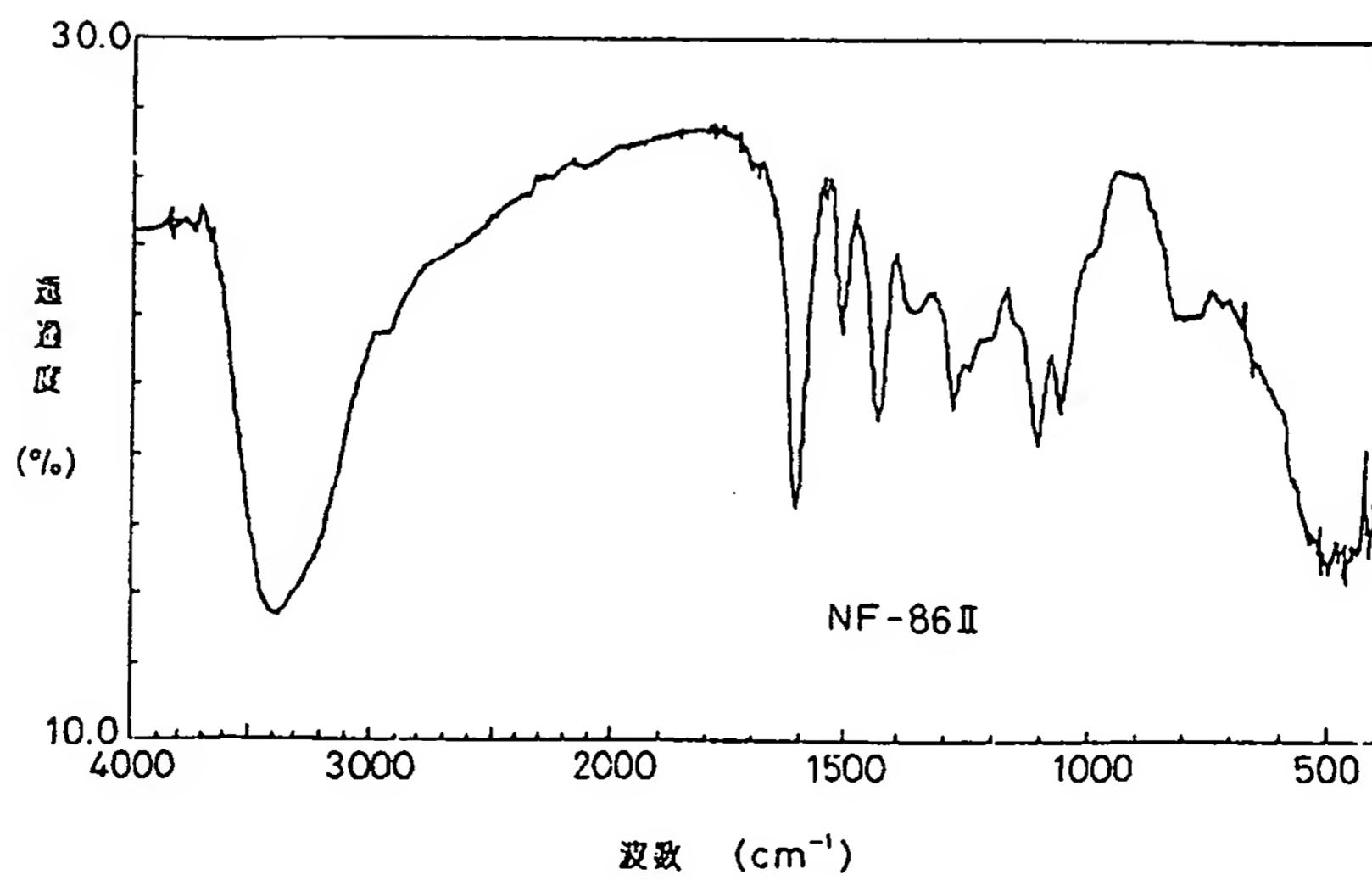
第4図



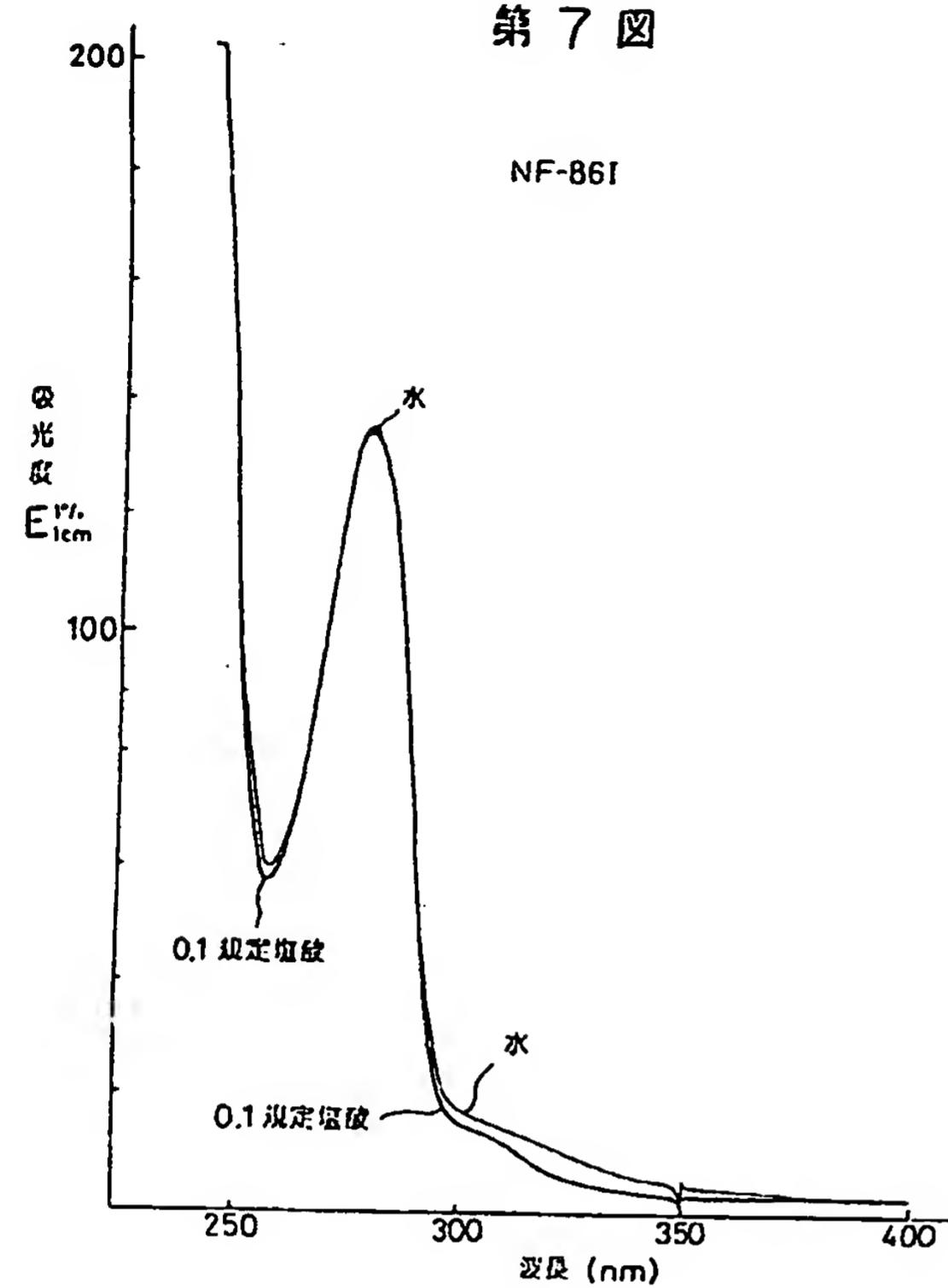
第 5 図



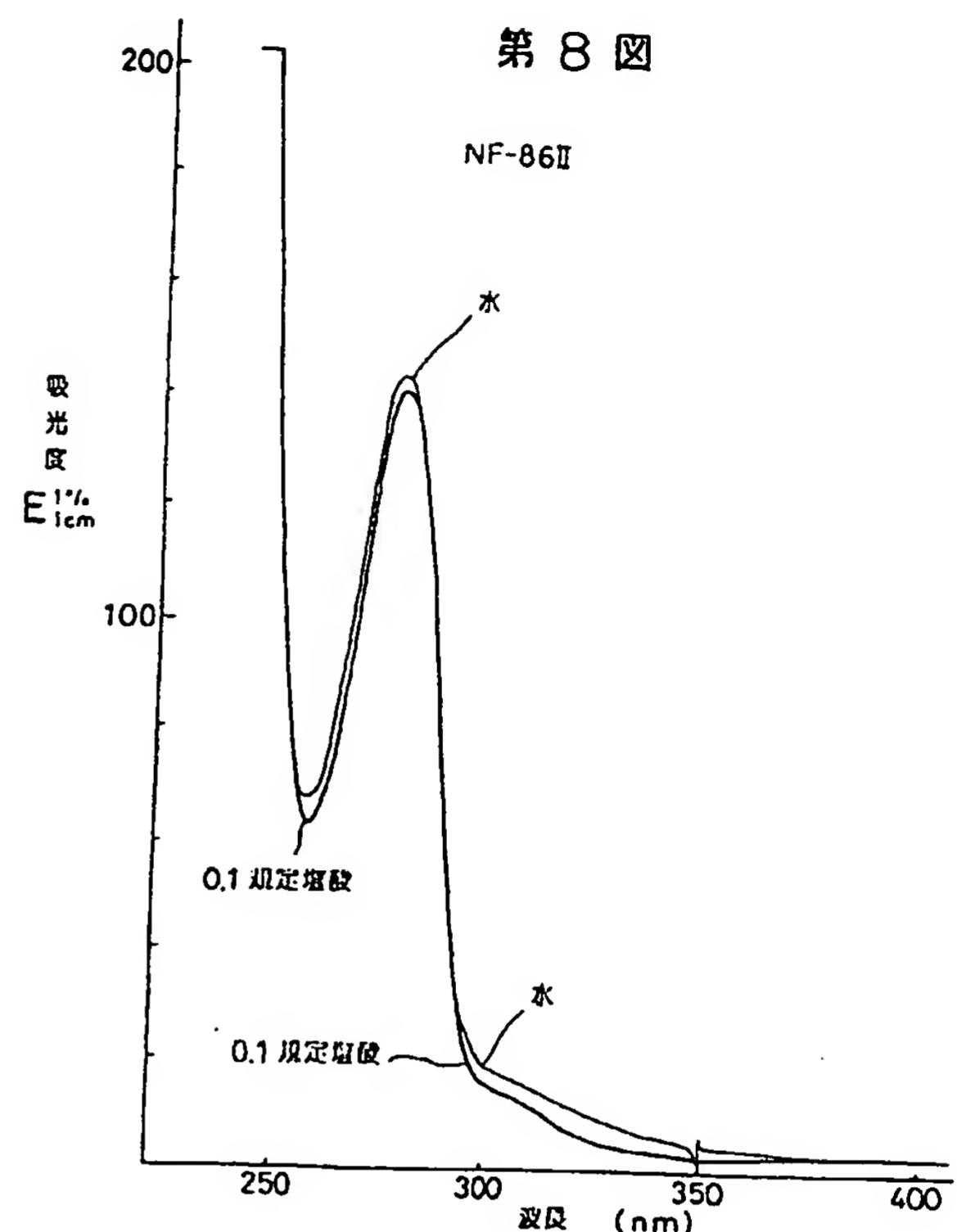
第 6 図



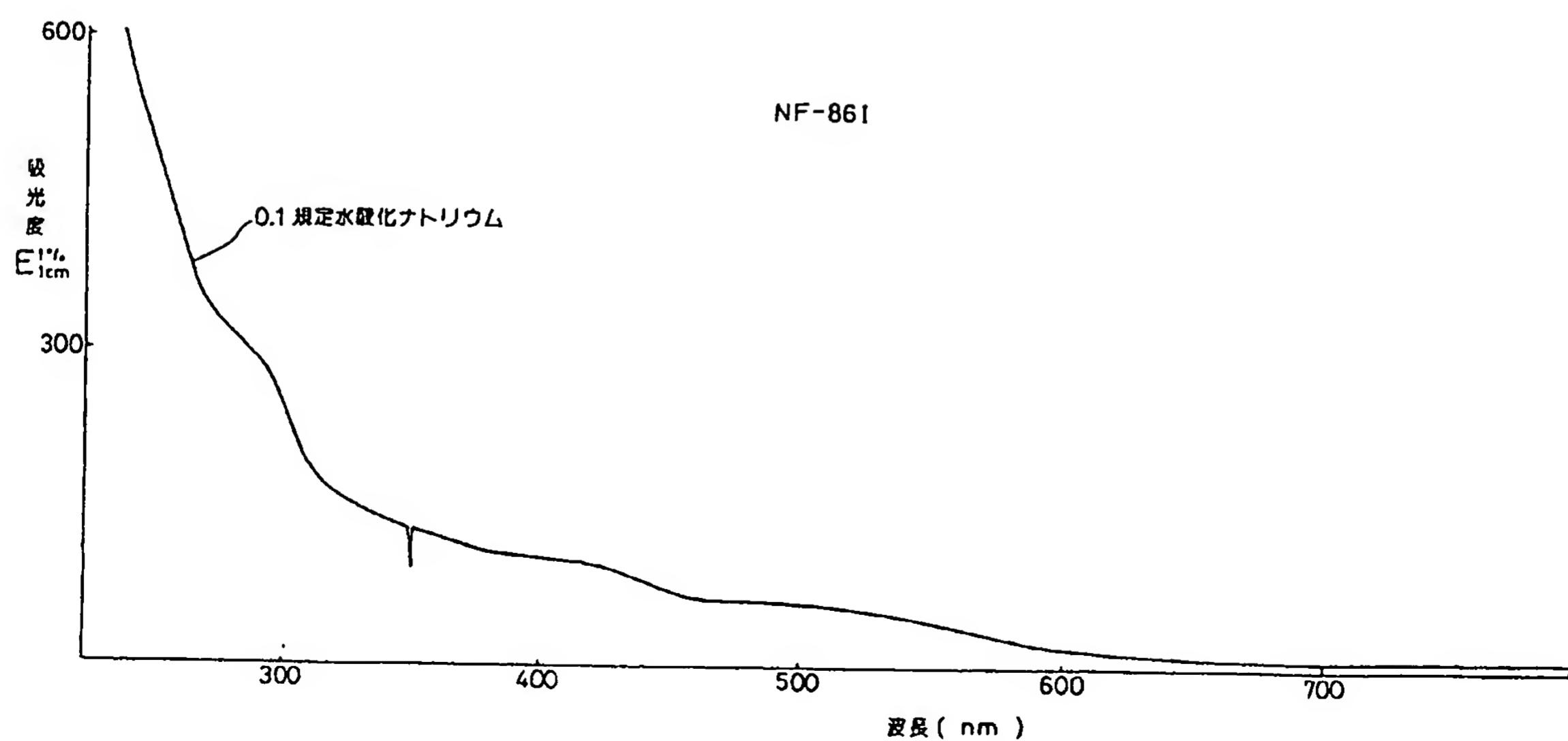
第7図



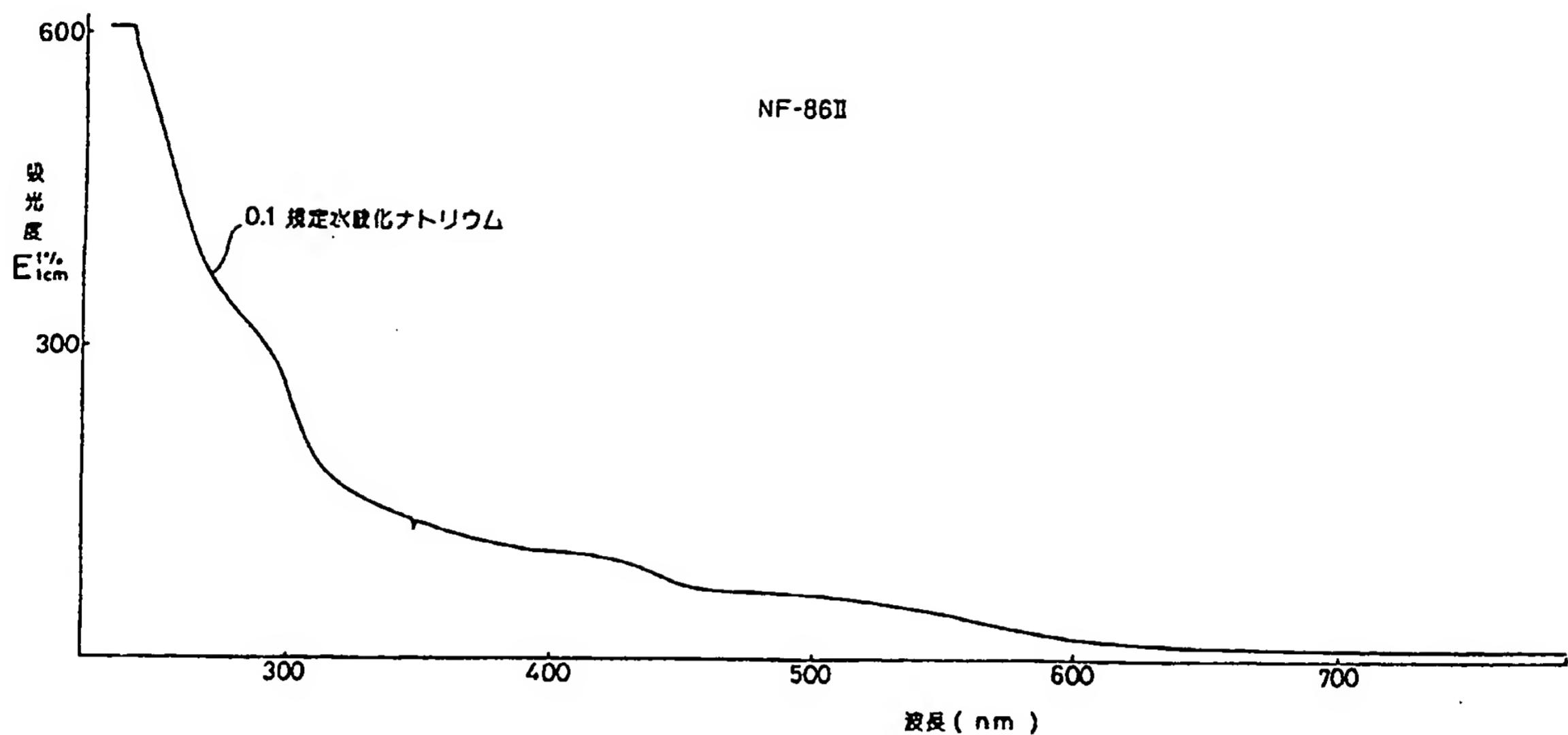
第8図



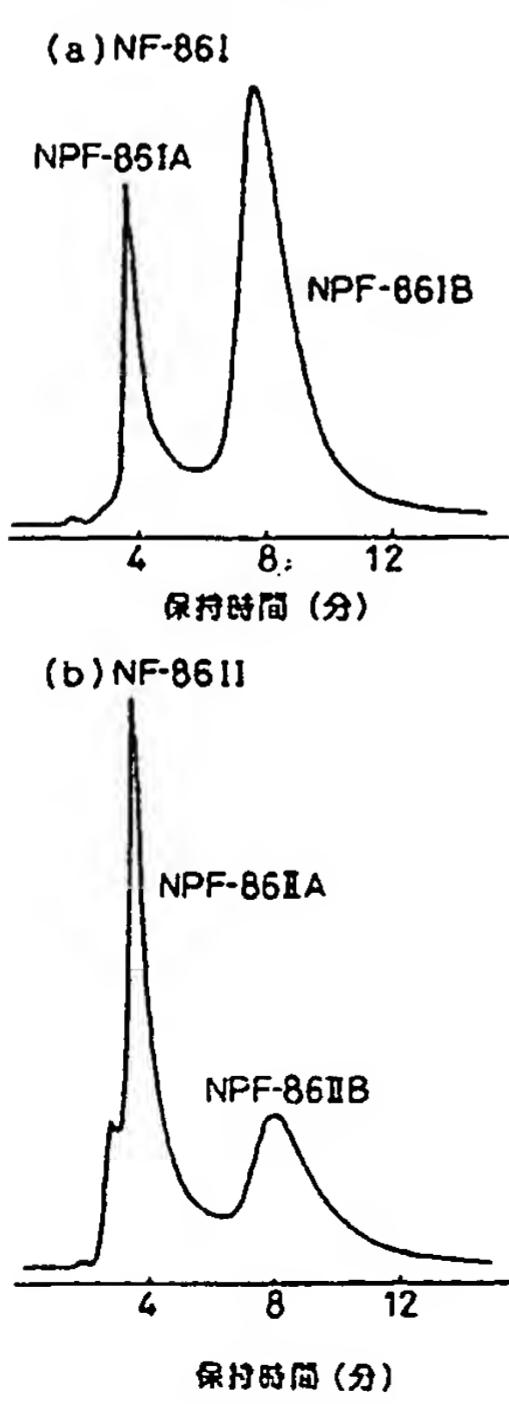
第9図



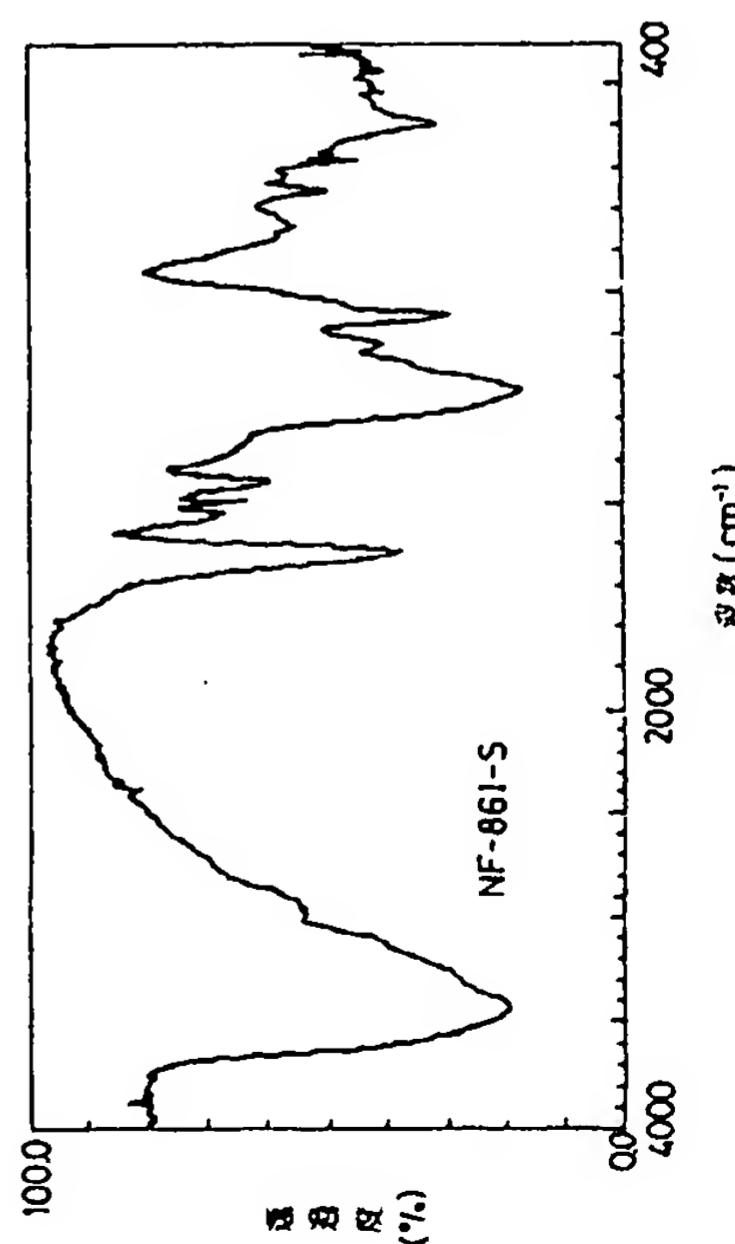
第10図



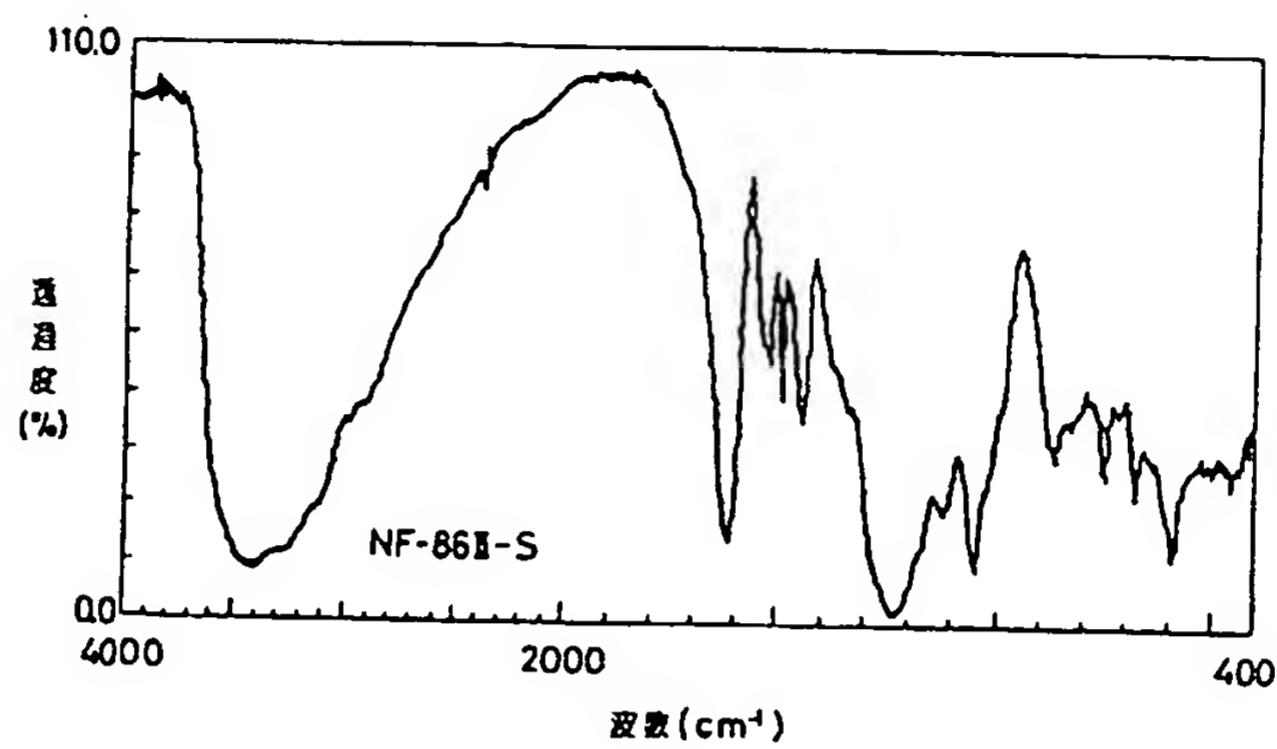
第11図



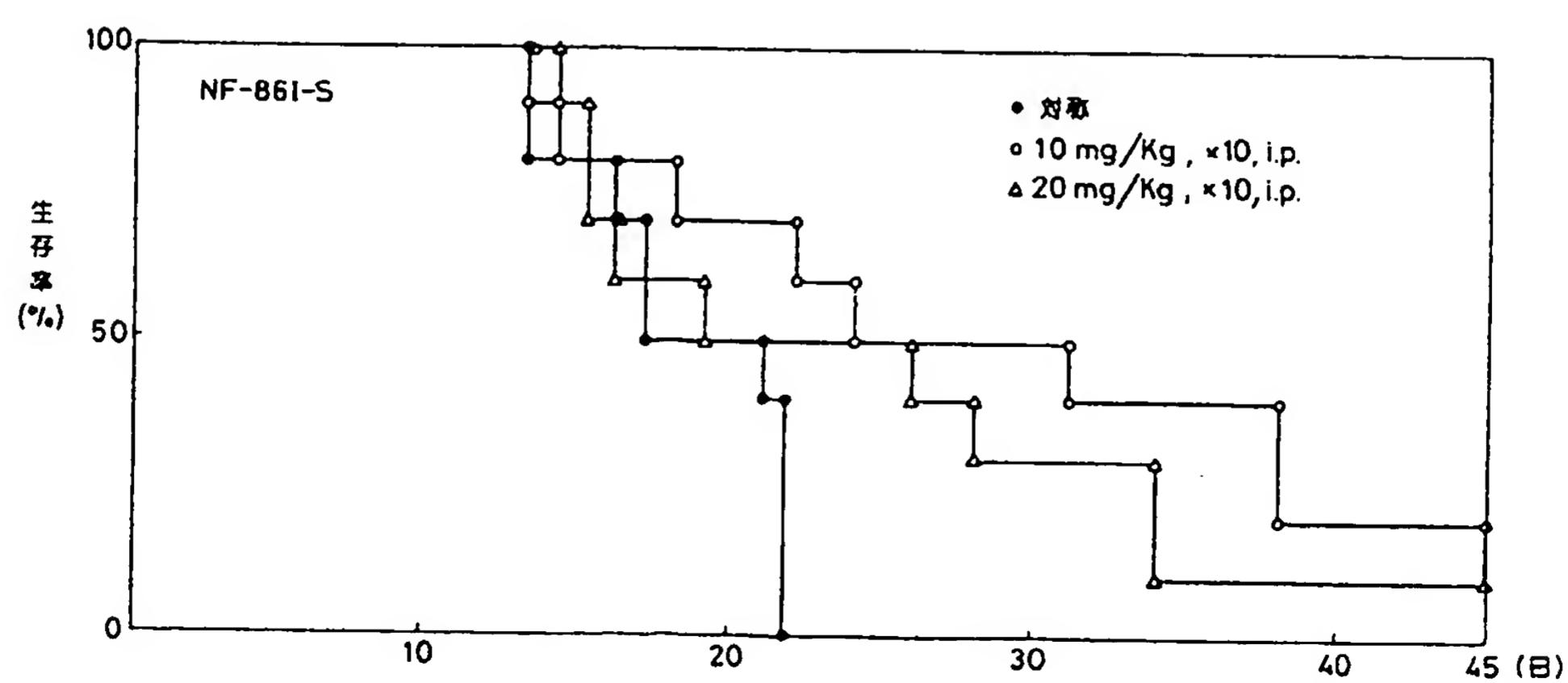
第12図



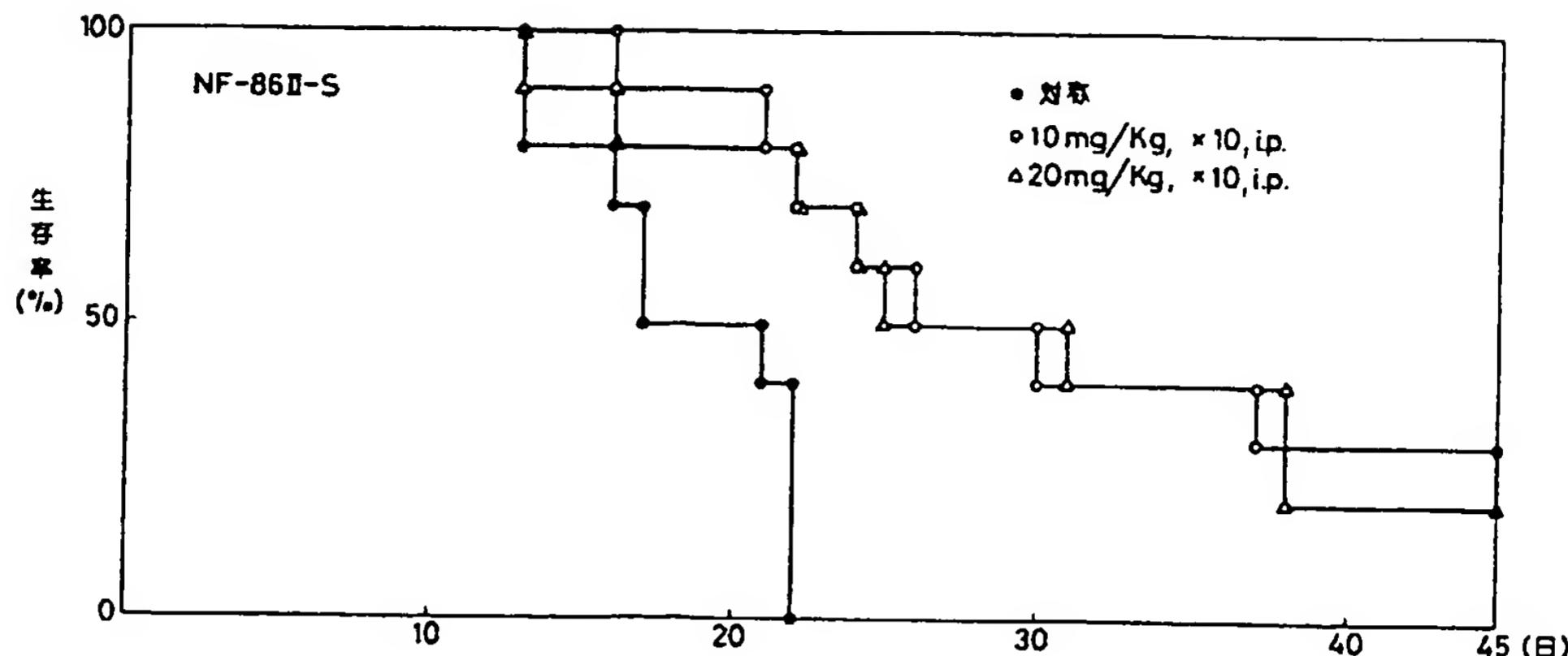
第13図



第14図



第15図



手 續 極 正 書

昭和63年9月30日

特許庁長官 吉田 文毅 殿

1. 事件の表示 昭和63年特許願第089744号

2. 発明の名称 上ロクロ部と観骨、下ロクロ部  
と受骨が一体となっている傘

3. 極正をする者 特許出願人

トヨタクトスミタクタヒロ  
東京都墨田区八広6-9-4

株式会社 互栄製作所

取締役社長 碓野 重男

4. 極正命令の日付 昭和63年8月30日

5. 極正の対象 適正な図面

6. 極正の内容 第一図、別紙の通り<sup>補正</sup>する

特許庁

